

Grzegorz Dzida, Andrzej Biłan, Janusz Hanzlik

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Lublinie

Polimorfizm G-308A genu czynnika martwicy guza alfa (TNF- α) u chorych na cukrzycę typu 2

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene G-308A polymorphism in patients with type 2 diabetes

STRESZCZENIE

WSTĘP. Czynn timer martwicy guza α (TNF- α) jest cytokiną, która może się przyczyniać do powstawania zjawiska insulinooporności. Insulinooporność jest jednym z kluczowych patomechanizmów prowadzących do ujawnienia się cukrzycy typu 2. Celem pracy jest ocena związku polimorfizmu genu TNF- α z cukrzycą typu 2 w polskiej populacji.

MATERIAŁ I METODY. Polimorfizm G-308A w regionie promotora genu TNF- α wykrywano metodą reakcji łańcuchowej polimerazy i polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP). Badano 172 chorych na cukrzycę typu 2. Grupę kontrolną stanowiły 172 osoby z prawidłową tolerancją glukozy, dobrane pod względem płci i wieku do chorych na cukrzycę.

WYNIKI. Genotyp TNF2 zawierający mutację występował częściej u osób z grupy kontrolnej (0,29) niż u chorych na cukrzycę (0,20). Nosiciele genotypu TNF2 z cukrzycą nie różnili się pod względem badanych cech klinicznych od chorych na cukrzycę z genotypem TNF1, poza częstszym występowaniem nadciśnienia tętniczego u nosicieli mutacji. W grupie osób z cukrzycą i prawidłowym ciśnieniem tętniczym

genotyp TNF2 występował istotnie rzadziej niż u pacjentów ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym i w grupie kontrolnej ($p = 0,011$).

WNIOSKI. Genotyp TNF2 najprawdopodobniej nie wiąże się z predyspozycją do cukrzycy typu 2, lecz przeciwnie, może mieć znaczenie ochronne. Wariant TNF2 jest czynn timer ryzyka nadciśnienia tętniczego towarzyszącego cukrzycy typu 2 w badanej populacji.

Słowa kluczowe: czyn timer martwicy guza α , insulinooporność, cukrzyca typu 2, nadciśnienie tętnicze, polimorfizm genetyczny

ABSTRACT

INTRODUCTION. Tumor necrosis factor α (TNF- α) is a cytokine which may contribute to the pathogenesis of insulin resistance. This resistance to insulin action plays a key role in type 2 diabetes. The aim of the study was the assessment of the association of TNF- α gene polymorphism with type 2 diabetes in Polish population.

MATERIAL AND METHODS. G-308A polymorphism in the promoter region of TNF- α gene was detected using polymerase chain reaction and restriction fragments length polymorphism (PCR-RFLP) method. Studied subjects were 172 patients with type 2 diabetes. Control group consisted of 172 healthy individuals with normal glucose tolerance, age and sex matched to study group.

RESULTS. TNF2 genotype occurred more frequently in healthy individuals when compared to diabetics

Adres do korespondencji: Dr med. Grzegorz Dzida
Klinika Chorób Wewnętrznych SPSK Nr 1
ul. Staszica 16, 20-081 Lublin
tel./faks: (081) 532 77 17
e-mail: gjdzd@panaceum.am.lublin.pl

Diabetologia Praktyczna 2001, tom 2, nr 4, 267-272

Copyright©2001 Via Medica

Nadesłano: 15.05.01

Przyjęto do druku: 16.09.01

(0.29 vs. 0.20). Diabetic TNF2 genotype bearers clinical characteristics did not differ substantially to this of diabetics with TNF1 genotype. The only important difference was higher frequency of arterial hypertension in TNF2 diabetic patients comparing to normotensive diabetic individuals. There was statistically important difference in TNF2 frequency, which was substantially lower among normotensive diabetics than among diabetics with hypertension and control subjects ($p = 0.011$).

CONCLUSIONS. TNF2 genotype seems not to be associated with susceptibility to type 2 diabetes but in contrary might be protective against the disease. TNF2 variant is a risk factor of arterial hypertension accompanying type 2 diabetes in study population.

Key words: tumor necrosis factor- α , insulin resistance, diabetes type 2, arterial hypertension, genetic polymorphism

Wstęp

Czynnik martwicy guza α (TNF- α , kachektyna) jest cytokiną, której podstawowym zadaniem jest udział w mechanizmach obronnych organizmu przed infekcją. Ma ona właściwości immunoregulacyjne, przeciwwirusowe, bierze udział w reakcjach cytotoksycznych, a także reguluje transkrypcję genów. Jej głównym źródłem w organizmie są aktywowane monocyty.

Czynnik martwicy guza działa za pośrednictwem swoistych receptorów zlokalizowanych na powierzchni większości komórek. Receptor typu 1 (TNF-R1, *Tumor Necrosis Factor Receptor 1*) odpowiada za jej działanie cytotoksyczne, pobudzanie proliferacji fibroblastów, odporność przeciwbakteryjną, aktywność przeciwwirusową, stymulację syntezy prostaglandyny E_2 oraz indukowanie dysmutazy nadtlenkowej. Natomiast pobudzenie receptora typu 2 (TNF-R2) powoduje proliferację limfocytów T, martwicę skóry oraz insulinooporność [1].

Okazało się więc, że cytokina ta pełni także istotną funkcję metaboliczną. Jest syntetyzowana przez komórki tkanki tłuszczowej i mięśniowej. Ponieważ stężenia TNF- α w surowicy są bardzo niskie, przypuszcza się, że działa ona w mechanizmie parakrynnym na komórki tych tkanek i produkowana w nadmiarze może doprowadzać do insulinooporności.

Nie wyjaśniono dokładnie, jaki jest mechanizm tej insulinooporności. Poprzez pobudzanie receptora TNF-R2 czynnik martwicy guza TNF- α ma zdolność do fosforylacji reszt serynowych substratu receptora insuliny 1 (IRS1, *Insulin Receptor Substrate 1*),

zmniejszając w ten sposób aktywność kinazy tyrozynowej receptora insulinowego. Wykazano, że hamuje on również ekspresję lipazy lipoproteinowej, a także transportera glukozy Glut 4. TNF- α zwiększa stężenie leptyny, co może się również przyczyniać do powstawania oporności na działanie insuliny [2].

Cukrzyca typu 2 jest chorobą wieloczynnikową, a jednym z głównych zjawisk metabolicznych obserwowanych w tym schorzeniu jest właśnie insulinooporność.

Gen czynnika martwicy guza α jest więc jednym z genów kandydatów w patogenezie cukrzycy typu 2.

Gen TNF- α jest zlokalizowany w ramieniu krótkim chromosomu 6 (6p 21,3) w bezpośrednim sąsiedztwie genów kodujących antygeny głównego układu zgodności tkankowej (MHC, *Major Histocompatibility Complex*). Opisano wiele polimorfizmów w *locus* tego genu. Polimorfizm dwualleliczny zlokalizowany w regionie promotora genu, polegający na substytucji guaniny przez adeninę w pozycji -308 (G-308A), stał się przedmiotem niniejszej pracy. Jest to jedyny z dotychczas opisanych polimorfizmów tego genu, który może mieć znaczenie funkcjonalne i wiązać się ze zwiększonym tempem ekspresji genu [4].

Materiał i metody

Badaniem objęto grupę 172 kolejnych chorych na cukrzycę typu 2 rozpoznaną na podstawie kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia, hospitalizowanych w I Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Lublinie. Grupę kontrolną stanowiły 172 osoby zdrowe z prawidłową tolerancją glukozy i prawidłowym ciśnieniem tętniczym, bez objawów choroby niedokrwiennej serca, dobrane pod względem płci i wieku do osób chorych na cukrzycę.

Wszystkie osoby chore na cukrzycę leczono, oprócz stosowania diety, doustnymi lekami przeciw cukrzycowymi bądź insuliną. Cukrzycę u osób chorych kwalifikowano jako typ 2 na podstawie skuteczności terapii bez zastosowania insuliny. Leczenie insuliną u tych osób prowadzono w przypadkach wtórnej nieskuteczności doustnych leków przeciw cukrzycowych.

Protokół badania uzyskał aprobatę Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej w Lublinie. Podstawowym warunkiem uczestnictwa w badaniu była pisemna zgoda pacjenta.

Wywiad rodzinny uznawano za dodatni, jeżeli stwierdzono obecność cukrzycy przynajmniej u jednego z krewnych pierwszego stopnia osoby badanej. Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano w czasie poprzednich hospitalizacji lub ambulatoryjnie. Za dolną granicę wartości ciśnienia skurczowego przy-

jęto 160 mm Hg, a rozkurczowego 95 mm Hg. Wszyscy chorzy z nadciśnieniem tętniczym otrzymywali leki hipotensyjne. Przebyty zawał serca potwierdzała dokumentacja lecznicza. Ostry zawał rozpoznawano na podstawie typowych kryteriów klinicznych, elektrokardiograficznych i enzymatycznych. Typ rozmieszczenia tkanki tłuszczowej określano na podstawie wskaźnika talia-biodra (WHR, *Waist-to-Hip Ratio*). Wartości WHR > 1 u mężczyzn i WHR > 0,9 u kobiet uznawano za typ centralny. Charakterystykę badanych grup przedstawia tabela 1.

Genomowe DNA izolowano z leukocytów krwi obwodowej metodą opracowaną przez Madisen i wsp. [5]. Preparaty DNA przechowywano w temperaturze 4°C.

Polimorfizm wykrywano w reakcji łańcuchowej polimerazy i po trawieniu amplifikowanego fragmentu DNA enzymem restrykcyjnym (PCR-RFLP, *Polymerase Chain Reaction — Restriction Fragments Length Polymorphism*).

Amplifikowano fragment DNA o długości 107 par zasad, obejmujący miejsce mutacji w reakcji łań-

cuchowej polimerazy z następującymi starterami: Sens: 5'- AGG CAA TAG GTT TTG AGG GCC AT-3'; Antysens: 5'- TCC TCC CTG CTC CGA TTC CG -3'.

Reakcję w całkowitej objętości 50 μ l z 500 ng DNA, 1 U polimerazy Taq, 20 pM każdego ze starterów, 2,5 mM każdego z dezoksynukleotydów (dATP, dTTP, dGTP i dCTP) w buforze dostarczonym przez producenta z dodatkiem 3,0 mMol/L MgCl₂ (wszystkie odczynniki MBI Fermentas) przeprowadzano w termocyklerze PTC-200 (MJ Research) w następujących warunkach: wstępna denaturacja 4 minuty w 94°C, następnie 35 cykli złożonych z denaturacji w 94°C przez 1 minutę, przyłączania starterów w 60°C przez 1 minutę i wydłużania łańcucha przez 1 minutę w temperaturze 72°C. Reakcję kończyło wydłużanie łańcucha przez 7 minut w temperaturze 72°C. 20 μ l produktów reakcji trawiono z 1 U enzymu restrykcyjnego NcoI (MBI Fermentas) w buforze zalecanym przez producenta w temperaturze 37°C przez 4 godziny. Produkty trawienia rozdzielano w 3-procentowym żelu agarozowym, a wyniki odczytywano w świetle nadfioletowym, po wybarwieniu DNA bromkiem etydyny.

W obecności allele typu dzikiego (guanina w pozycji -308) amplifikowany fragment posiada miejsce cięcia dla enzymu NcoI, który trawi go na dwa krótsze fragmenty o długości 87 i 20 par zasad (TNF1). Mutacja (adenina w pozycji -308) likwiduje miejsce cięcia dla enzymu restrykcyjnego NcoI, tym samym amplifikowany fragment o długości 107 par zasad pozostaje niestrawiony (TNF2).

Analiza statystyczna

Do porównania badanych grup wykorzystano test t-Studenta dla prób niepowiązanych. Porównanie częstości alleli i dystrybucji genotypów badano testem χ^2 . Do obliczenia ilorazu szans (OR, *odds ratio*) i 95-procentowych przedziałów ufności (CI, *confidence interval*) zastosowano analizę regresji logistycznej. Dla wielokrotnych porównań zastosowano poprawkę Bonferroniego. Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartości współczynnika $p < 0,05$.

Wyniki

Częstość występowania zmutowanego allele w grupie osób chorych na cukrzycę wynosiła 0,11, a w grupie kontrolnej 0,15, co zgadza się z częstością występowania tego allele w innych populacjach rasy kaukaskiej [6, 7].

Ze względu na bardzo rzadkie występowanie homozygotycznego genotypu z dwoma allelami zmutowanymi (2 przypadki w grupie cukrzycowej

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup

	Chorzy na cukrzycę	Grupa kontrolna
Liczebność	172	172
kobiety	105 (61%)	105 (61%)
mężczyźni	67 (39%)	67 (39%)
Średni wiek (\pm SD)	65,9 (\pm 9,9)	65,8 (\pm 7,8)
Średni wiek w chwili		
rozpoznania cukrzycy	59,6 (\pm 9,9)	–
Średni czas od rozpoznania		
w latach	8,4 (\pm 3,2)	–
Pozytywny wywiad rodzinny	57 (33%)	0
Nadciśnienie tętnicze	87 (51%)	0
Przebyty zawał serca	43 (25%)	0
Jawna niewydolność nerek	22 (13%)	0
Średni wskaźnik masy ciała		
(BMI) [kg/m ²] (\pm SD)	28,05 (\pm 4,4)*	25,61 (\pm 1,4)*
Osoby z nadwagą i otyłością		
(BMI > 26 kg/m ²)	117 (68%)*	64 (37%)*
w tym: z centralnym typem		
rozmieszczenia tkanki		
tłuszczowej	48	16
Średnie stężenie		
cholesterolu całkowitego		
[mg/dl] (\pm SD)	184,5 (\pm 34,5)*	161,6 (\pm 25,9)*
[mmol/l] (\pm SD)	4,78 (\pm 0,9)*	4,18 (\pm 0,67)*

(*) — istotne statystycznie różnice między grupami; SD — wskaźnik odchylenia; BMI — wskaźnik masy ciała

Tabela 2. Częstości występowania genotypów w grupie osób chorych na cukrzycę i w grupie kontrolnej

Grupa	Genotyp TNF1	Genotyp TNF2
Cukrzyca typu 2	138 (0,80)	34 (0,20)
Grupa kontrolna	122 (0,71)	50 (0,29)
OR 0,6; 95% CI (0,36–0,99): p = 0,046		

i 4 w grupie kontrolnej), genotyp ten analizowano łącznie z genotypem heterozygotycznym z jednym allelem zmutowanym i oznaczano je jako TNF2. Genotyp homozygotyczny z dwoma allelami dzikimi oznaczano jako TNF1. Porównano częstość występowania genotypów w grupie osób chorych na cukrzycę z grupą kontrolną. Wyniki zestawiono w tabeli 2.

Genotyp TNF2 występował znacznie rzadziej u osób chorych na cukrzycę niż w grupie kontrolnej. Różnica osiągnęła poziom istotności statystycznej.

Porównano osoby chore na cukrzycę z genotypem TNF1 z nosicielami genotypu TNF2 z tej grupy. Wyniki zestawiono w tabeli 3.

Grupa chorych na cukrzycę nie różniła się istotnie pod względem cech klinicznych w zależności od genotypu poza istotnie częstszym współistnieniem nadciśnienia tętniczego u osób z genotypem TNF2. Ponadto u osób z tym genotypem średni wskaźnik masy ciała był większy, a cukrzycę rozpoznawano u nich w młodszym wieku. Różnice te nie były jednak istotne statystycznie.

Porównano częstość występowania genotypu TNF2 w grupie osób chorych na cukrzycę ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym z grupy osób chorych na cukrzycę bez nadciśnienia i z grupą kontrolną. Wyniki przedstawia tabela 4.

W grupie osób chorych na cukrzycę genotyp TNF2 wiąże się z występowaniem nadciśnienia tętniczego (OR 2,41; 95% CI 1,1–5,4; p = 0,03).

Tabela 3. Porównanie osób z genotypem TNF1 i TNF2 w grupie osób chorych na cukrzycę

	TNF1	TNF2
Liczebność	138	34
kobiety	86 (0,62)	19 (0,56)
mężczyźni	52 (0,38)	15 (0,44)
Średni wiek w chwili rozpoznania (± SD)	60,13 (± 10,2)	57,8 (± 10,7)
Pozytywny wywiad rodzinny	47 (0,34)	10 (0,29)
Nadciśnienie tętnicze	64 (0,46)*	23 (0,68)*
Przebyty zawał serca	36 (0,26)	7 (0,21)
Średni wskaźnik masy ciała (BMI) [kg/m ²] (± SD)	27,82 (± 4,28)	28,98 (± 4,87)
Osoby z otyłością (BMI ≥ 28 kg/m ²)	63 (0,45)	19 (0,56)
Średni WHR		
kobiety	0,85	0,84
mężczyźni	1,03	1,02
Średnie stężenie cholesterolu całkowitego [mg/dl] (± SD)	188,3 (± 34,9)	184,1 (± 33,45)

*Różnice istotne statystycznie; WHR — wskaźnik talia/biodra; BMI — wskaźnik masy ciała; SD — wskaźnik odchylenia

W tej grupie osób występowanie genotypu TNF2 nie wiązało się z nadwagą i otyłością (OR 1,39; 95% CI 0,6–3,3; p = 0,44).

W modelu regresji logistycznej, obejmującej przedstawione parametry kliniczne, czynnikami ryzyka nadciśnienia współistniejącego z cukrzycą okazały się: genotyp TNF2 (OR 2,35; 95% CI 1,04–5,34; p = 0,04) oraz wskaźnik masy ciała (OR 1,09; 95% CI 1,01–1,17; p = 0,026).

Warto podkreślić, że BMI okazał się czynnikiem ryzyka niezależnie od typu rozmieszczenia tkanki tłuszczowej, określanego wskaźnikiem WHR.

Jednak po zastosowaniu czułej poprawki Bonferroniego dla wielokrotnych porównań, jedyna istot-

Tabela 4. Częstość występowania genotypów u osób chorych na cukrzycę typu 2 z nadciśnieniem tętniczym i bez nadciśnienia oraz w grupie kontrolnej — porównanie badanych grup

Porównanie badanych grup		OR, 95% CI; p
Cukrzyca z nadciśnieniem	Cukrzyca bez nadciśnienia	2,41; 1,1–5,4
TNF1 64 (0,74)/TNF2 23 (0,26)	TNF1 74 (0,87)/TNF2 11 (0,13)	p = 0,03
Cukrzyca z nadciśnieniem	Kontrola	0,87; 0,49–1,57
TNF1 64 (0,74)/TNF2 23 (0,26)	TNF1 122 (0,79)/TNF2 50 (0,21)	p = 0,29
Cukrzyca bez nadciśnienia	Kontrola	0,36; 0,17–0,74
TNF1 74 (0,87)/TNF2 11 (0,13)	TNF1 122 (0,79)/TNF2 50 (0,21)	p = 0,058

na statystycznie różnica dotyczyła częstości występowania genotypu TNF2 między grupą chorych na cukrzycę z prawidłowym ciśnieniem tętniczym a grupą kontrolną (odpowiednio 0,13 i 0,21; $p = 0,011$).

Dyskusja

Czynnik martwicy guza bierze udział w regulacji procesów metabolicznych, która wiąże się ze zjawiskiem insulinooporności.

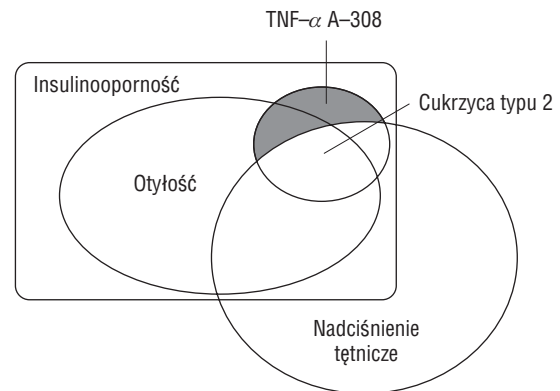
Badano polimorfizm (G-308A) genu TNF- α w aspekcie jego związku z poszczególnymi wykładnikami laboratoryjnymi insulinooporności. Wyniki tych badań są sprzeczne. Badanie Fernandez-Reala i wsp. potwierdziło związek tego polimorfizmu z insulinoopornością oznaczaną metodą klamry metabolicznej oraz z podwyższonym stężeniem leptyny w surowicy [6]. Inne opublikowane dotychczas prace nie potwierdzają istotnego związku tego polimorfizmu z insulinoopornością [8–10].

Uważa się, że insulinooporność jest w pewnej części uwarunkowana genetycznie. Za jej powstawanie odpowiada przypuszczalnie kilka *loci* genowych. Zjawisko to traktuje się jako fenotyp pośredni w badaniach genetycznego podłoża otyłości, cukrzycy typu 2 oraz nadciśnienia tętniczego.

Ponieważ oporność na działanie insuliny odgrywa kluczową rolę w patogenezie cukrzycy typu 2, obserwowana mniejsza częstość występowania nosicielstwa tego polimorficznego wariantu u osób chorych na cukrzycę typu 2 w porównaniu z grupą osób z prawidłową tolerancją glukozy było nieoczekiwane. Przedstawione wyniki badań sugerują, że w badanej polskiej populacji wariant A-308 ma raczej ochronne znaczenie. Podobne wyniki opublikowali Hamann i wsp. [11].

Insulinooporność leży u podłoża nie tylko cukrzycy typu 2, ale również nadciśnienia tętniczego i otyłości. Schorzenia te, często współistniejące, stanowią elementy zespołu metabolicznego (ryc. 1).

Szacuje się, że w populacji polskiej 80% osób w chwili rozpoznania cukrzycy jest otyłych. W badanej populacji nadwagę i otyłość stwierdzono u 68% osób chorych na cukrzycę. Tkanka tłuszczowa jest miejscem produkcji kachektyny. Stwierdzono, że w otyłości dochodzi do nadmiernej ekspresji genu TNF- α [12]. Wyniki badań polimorfizmu G-308A tego genu wykazują związek wariantu A-308 bądź to z wartością BMI [5, 6], bądź z typem rozmieszczenia tkanki tłuszczowej w zależności od płci [13] lub nie potwierdzają takiego związku z nadwagą i otyłością [8, 10]. Uzyskane wyniki badań nie wskazują na związek genotypu TNF2 z otyłością towarzyszącą cukrzycy i typem rozmieszczenia tkanki tłuszczowej.



Rycina 1. Związek insulinooporności z cukrzycą, otyłością i nadciśnieniem tętniczym. Zaznaczony obszar ilustruje stwierdzoną możliwość ochronnego związku wariantu A-308 genu TNF- α z cukrzycą typu 2 w badanej populacji

Nadciśnienie tętnicze u chorych na cukrzycę występuje 2–3 razy częściej niż w ogólnej populacji. Szacuje się, że u około 50% osób chorych na cukrzycę typu 2 wartości ciśnienia tętniczego są podwyższone [14]. W badanej populacji u 51% osób chorych na cukrzycę typu 2 rozpoznano nadciśnienie tętnicze.

Gen TNF- α może uczestniczyć w regulacji napięcia ścian naczyń nie tylko poprzez indukowanie oporności na insulinę, lecz również poprzez interakcję z substancjami naczynioaktywnymi oraz z układem renina-angiotensyna. Wykazano, że TNF- α hamuje ekspresję śródbłonkowej syntazy tlenku azotu, a zwiększa produkcję endoteliny 1 i angiotensynogenu [15]. Uzyskane wyniki wskazują na związek badanego polimorfizmu z nadciśnieniem tętniczym współistniejącym z cukrzycą. W badanej populacji osób chorych na cukrzycę wariant TNF2 jest czynnikiem ryzyka nadciśnienia tętniczego. Osoby z nadciśnieniem tętniczym towarzyszącą cukrzycy typu 2 stanowią grupę pacjentów o szczególnie wysokim ryzyku powikłań naczyniowych i to zarówno o charakterze makro-, jak i mikroangiopatii.

Przypuszczalnie związek polimorficznego wariantu TNF2 z zespołem metabolicznym istnieje w poważnych przypadkach tego zespołu, w których dochodzi do nakładania się co najmniej dwóch następujących schorzeń: nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2 lub otyłości. Pausova i wsp. wykazali związek genotypu TNF2 z nadciśnieniem towarzyszącą otyłości i typem rozmieszczenia tkanki tłuszczowej [16]. Niepublikowane wyniki badań własnych wskazują na związek tego polimorfizmu z nadciśnieniem tętniczym wyłącznie u osób otyłych z BMI > 28 kg/m².

Przedstawione wyniki sugerują raczej paradoksalny ochronny efekt wariantu TNF2, który może się

przecież wiązać ze zwiększoną ekspresją genu kodującego tę cytokinę.

Wyniki prac niepotwierdzających związku polimorfizmu w regionie promotora genu TNF- α ze skłonnością do schorzeń o podłożu zapalnym i metabolicznym spowodowały powstanie hipotezy, według której polimorfizm ten nie ma znaczenia funkcjonalnego, ale pozostaje w ścisłym sprzężeniu z allelicznymi odmianami genów, między innymi kodujących antygeny HLA [17].

Cukrzyca typu 2 jest wysoce heterogenną jednostką chorobową, uwarunkowaną w większości przypadków wielogenowo. Ponadto różny zestaw genów jest odpowiedzialny za powstawanie predyspozycji do rozwoju cukrzycy typu 2 u różnych osób.

Znaczenie polimorfizmu w *locus* genu TNF- α należałoby więc rozpatrywać w aspekcie interakcji z innymi *loci* genowymi. TNF- α działa przecież za pośrednictwem swoistych receptorów. Wykazano związek genu kodującego receptor typu 2 (TNF-R2) z nadciśnieniem tętniczym i zaburzeniami lipidowymi [18]. Gen ten stał się również kandydatem w badaniach patogenezy zespołu metabolicznego. Podobne znaczenie zyskały także geny receptora leptyny i receptora PPAR γ (*Peroxisome Proliferator — Activated Receptor γ*). Wiedza na temat zjawisk metabolicznych uczestniczących w powstawaniu cukrzycy typu 2 stale się rozwija. Być może w zjawisku insulinooporności nadrzędną rolę w stosunku do kachektyny pełnią nowo odkryty hormon rezystyna i jej receptor [19].

Wnioski

1. Polimorficzny wariant A-308 genu czynnika martwicy guza α występuje istotnie rzadziej u osób chorych na cukrzycę typu 2, co sugeruje możliwość ochronnego działania tego wariantu w badanej populacji.
2. Częstsze występowanie genotypów zawierających wariant A-308 genu TNF- α w grupie osób chorych na cukrzycę typu 2 z towarzyszącym nadciśnieniem może przemawiać za związkiem polimorfizmu G-308A z nadciśnieniem towarzyszącym cukrzycy typu 2.

PIŚMIENNICTWO

1. Uysal K., Wiesbrock S., Hotamisligil G.: Functional analysis of tumor necrosis factor (TNF) receptors in TNF-alpha-mediated insulin resistance in genetic obesity. *Endocrinology* 1998; 139: 4832–4838.
2. Hotamisligil G.: Mechanisms of TNF-alpha induced insulin resistance. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 1999; 107: 119–125.
3. Wilson A., di Giovine F., Blakemore A., Duff G.: Single base polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum. Molec. Genet.* 1992; 1: 353.
4. Wilson A., Symons J., McDowell T., di Giovine F., Duff G.: Effect of tumor necrosis factor (TNF-alpha) promoter base transition on transcription activity. *Br. J. Rheumatol.* 1994; 33 (supl.1): 89.
5. Madisen L., Hoar D., Holroyd C., Crisp M., Hodes M.: DNA banking: the effect of storage of blood and isolated DNA on the integrity of DNA. *Am. J. Med. Genet.* 1987; 27: 379–390.
6. Fernandez-Real M., Gutierrez C., Ricart W., Casamitjana R., Fernandez-Castaner M., Vendrell J. i wsp.: The TNF-alpha gene NcoI polymorphism influences the relationship among insulin resistance, percent body fat and increased serum leptin levels. *Diabetes* 1997; 46: 1468–1472.
7. Herrmann S., Ricard S., Nicaud V., Mallet C., Arveiler D., Evans A. i wsp.: Polymorphisms of the tumor necrosis factor alpha gene, coronary heart disease and obesity. *Eur. J. Clin. Invest.* 1998; 1: 59–66.
8. daSilva B., Gapstur S., Achenbach Y., Schuh T., Kotlar T., Liu K., Lowe W.: Lack of association between the -308 polymorphism of the tumor necrosis factor-alpha gene and insulin resistance syndrome. *J. Invest. Med.* 2000; 4: 236–244.
9. Rasmussen S., Urhammer S., Jensen J., Hansen T., Borch-Johnsen K., Pedersen O.: The -238 and -308 G to A polymorphisms of the tumor necrosis factor alpha gene promoter are not associated with features of the insulin resistance syndrome or altered birth weight in Danish Caucasians. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 4: 1731–1734.
10. Lee S., Pu Y., Thomas G., Lee Z., Tomlinson B., Cockram C., Critchley J., Chan J.: Tumor necrosis factor alpha gene G-308A polymorphism in the metabolic syndrome. *Metabol. Clin. Exper.* 2000; 8: 1021–1024.
11. Hamann A., Mantzoros C., Vidal-Puig A., Flier J.: Genetic variability in the TNF-alpha promoter is not associated with type II diabetes mellitus (NIDDM). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 211: 833–839.
12. Hotamisligil G., Arner P., Caro J., Atkinson R., Spiegelman B.: Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor alpha in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 2409–2415.
13. Hoffstedt J., Eriksson P., Hellstrom L., Rossner S., Ryden M., Arner P.: Excessive fat accumulation is associated with the TNF-alpha -308 G/A promoter polymorphism in women but not in men. *Diabetologia* 2000; 1: 117–120.
14. Smetkowska-Jurkiewicz E., Krupa-Wojciechowska B.: Nadciśnienie tętnicze a cukrzyca. W: Nadciśnienie tętnicze. Januszewicz A., Januszewicz W., Szczepańska-Sadowska E., Sznajderman M. (red.). *Medycyna Praktyczna* Kraków 2000, 519–520.
15. Winkler G., Lakatos P., Salomon F., Nagy Z., Speer G., Kovacs M. i wsp.: Elevated serum TNF-alpha level as a link between endothelial dysfunction and insulin resistance in normotensive patients. *Diabetic. Med.* 1999; 16: 207–211.
16. Pausova Z., Deslauries B., Gaudet D., Tremblay J., Kotchen T., Laroche P., Cowley A., Hamet P.: Role of tumor necrosis-alpha gene locus in obesity and obesity-associated hypertension in French Canadians. *Hypertension* 2000; 1: 14–19.
17. Allen R.: Polymorphism of the human TNF-alpha promoter — random variation of functional diversity? *Molec. Immunol.* 1999; 36: 1017–1027.
18. Glenn C., Wang W., Benjafield A., Morris B.: Linkage and association of tumor necrosis factor receptor 2 locus with essential hypertension, hypercholesterolaemia and plasma shed receptor. *Hum. Mol. Genet.* 2000; 13: 1943–1949.
19. Stepan C., Bailey S., Bhat S., Brown E., Banerjee R., Wright C. i wsp.: The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307–312.